

Aus dem Institut für Veterinär-Hygiene der Universität Zürich
(Direktor: Prof.Dr.Dr.h.c.E.Hess)

Konservierung der für die bakteriologische Oberexpertise bestimmten Proben von Fleisch und Fleischwaren

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
ERNST HERRMANN
Tierarzt
von Schaffhausen

Genehmigt auf Antrag von
Prof.Dr.Dr.h.c.E.Hess, Referent
Prof.Dr.H.Keller, Korreferent

1903

Zürich 1982

ADAG Administration & Druck AG

Aus dem Institut für Veterinär-Hygiene der Universität Zürich
(Direktor: Prof.Dr.Dr.h.c.E.Hess)

Konservierung der für die bakteriologische Oberexpertise bestimmten Proben von Fleisch und Fleischwaren

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
ERNST HERRMANN
Tierarzt
von Schaffhausen

Genehmigt auf Antrag von
Prof.Dr.Dr.h.c.E.Hess, Referent
Prof.Dr.H.Keller, Korreferent

Zürich 1982

ADAG Administration & Druck AG



NAME: [Name]

PLATZ: [Platz]

1. Aufgabe

2. Aufgabe

3. Aufgabe

4. Aufgabe

5. Aufgabe

6. Aufgabe

7. Aufgabe

8. Aufgabe

9. Aufgabe

10. Aufgabe

11. Aufgabe

12. Aufgabe

13. Aufgabe

14. Aufgabe

15. Aufgabe

16. Aufgabe

17. Aufgabe

18. Aufgabe

19. Aufgabe

20. Aufgabe

21. Aufgabe

22. Aufgabe

23. Aufgabe

24. Aufgabe

25. Aufgabe

26. Aufgabe

27. Aufgabe

28. Aufgabe

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

A) EINLEITUNG

B) LITERATUR

- I GESETZLICHE BESTIMMUNGEN
- II BELASTUNG DES FLEISCHES MIT MIKROORGANISMEN
- III EINFLUSS DER KÜHLUNG AUF DAS BAKTERIENWACHSTUM
- IV DEFINITION UND EINTEILUNG KÄLTIELIEBENDER BAKTERIEN
- V EINFLUSS DES GEFRIERPROZESSES AUF MIKROORGANISMEN
- VI EINFLUSS DER EINFRIERGESCHWINDIGKEIT AUF MIKROORGANISMEN
- VII UNTERSCHIEDLICHES VERHALTEN GRAMPOSITIVER UND GRAMNEGATIVER KEIME WÄHREND DER GEFRIERLAGERUNG
- VIII PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE KONSERVIERUNGSMETHODEN
- IX HEMMZUSÄTZE, DIE SICH ALS KOMBINATION FÜR DIE KEIMKONSERVIERUNG IN FLEISCHWAREN BEWÄHRT HABEN
- X BEISPIEL EINER HEMMSTOFFKOMBINATION

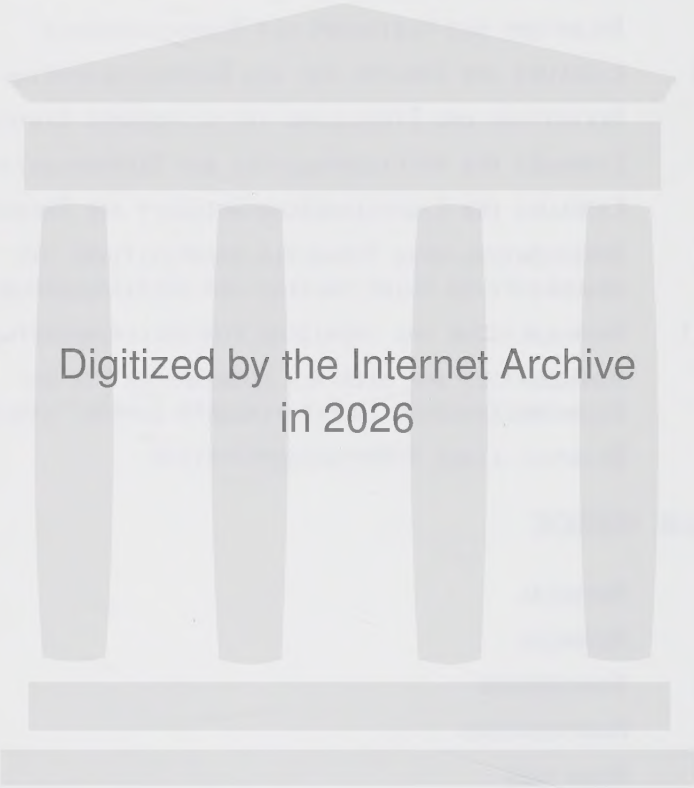
C) EIGENE VERSUCHE

- I MATERIAL
- II METHODIK
- III VORVERSUCHE
- IV HAUPTVERSUCH
- V RESULTATE
- VI KOMMENTAR

D) ZUSAMMENFASSUNG

E) ANHANG

F) LITERATURVERZEICHNIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507207_0004

A) EINLEITUNG

Das Bundesgesetz betreffend den Verkehr mit Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen vom 8. Dezember 1905 räumt dem Hersteller oder Verkäufer von Lebensmitteln in den Artikeln 16 bis 20 das Recht ein, bei Beanstandung seines Produkts eine Oberexpertise zu verlangen.

Ganz allgemein, spätestens aber im Zeitpunkt, in dem die Verordnung über die bakteriologischen Mindestanforderungen an Fleischwaren, gestützt auf Artikel 13 der eidgenössischen Fleischschauverordnung vom 31. Oktober 1957 in Kraft tritt, stellt sich die Frage der Konservierung von Proben, die für Oberexpertisen zur Verfügung zu stehen haben. Dabei ist zu fordern, dass sich der Keimgehalt während der Lagerung nicht verändert.

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, dieses Problem unter Berücksichtigung der Praxis zu lösen.

B) LITERATUR

I. GESETZLICHE BESTIMMUNGEN

- a) Bundesgesetz betreffend den Verkehr mit Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen (Lebensmittelgesetz vom 8. Dezember 1905)

Im Lebensmittelgesetz vom 8.12.1905 findet sich bezüglich Oberexpertise folgender einschlägiger Artikel:

- Art. 16

²Dem Beteiligten steht das Recht zu, innert fünf Tagen nach Empfang der Mitteilung Einsprache zu erheben und eine Oberexpertise zu verlangen.

³Innerhalb der nämlichen Frist kann auch gegen die Befunde oder Verfügungen eines Fleischschauers Einsprache erhoben und eine Oberexpertise verlangt werden.

- Weiter befassen sich die Artikel 17 bis 20 vor allem mit den administrativen Details, wie man bei einer Oberexpertise vorzugehen hat.
- Zudem kann nach Artikel 12 Absatz 2 der Besitzer der Ware verlangen, dass ihm bei der Probenerhebung eine amtlich verschlossene Probe zurückgelassen wird. Er kann darüber frei verfügen, d.h. ein privates Gutachten erstellen lassen oder sie bei einer späteren gerichtlichen Beurteilung dem Richter für weitere Untersuchungen zur Verfügung stellen. Diese Probe dient aber nicht als Grundlage für die Oberexpertise (Artikel 16 Absatz 2 Lebensmittelgesetz). Für die Oberexpertise ist Material von der "gleichen" Probe zu verwenden, die bereits untersucht wurde.

b) Eidgenössische Fleischschauverordnung (Vom 11. Oktober 1957)

In der Eidgenössischen Fleischschauverordnung vom 11. Oktober 1957, die sich auf die Artikel 7, 9, 11, 54, 55 und 57 des Lebensmittelgesetzes stützt, hat es folgende Bestimmungen:

- Art. 13

¹Das Eidgenössische Volkswirtschaftsdepartement erlässt nach Fühlungnahme mit den Kantonen und den beteiligten Organisationen Vorschriften über die Mindestanforderungen an Fleischwaren aus zerkleinertem Fleisch, insbesondere über die Zusammensetzung des Rohmaterials, die Beimischungen und Verarbeitung. Ferner kann es nach Fühlungnahme mit den Kantonen und den beteiligten Organisationen Bestimmungen über die Anforderungen an die Qualität einzelner Fleischwarensorten aufstellen.

²Ausserdem ist das eidgenössische Volkswirtschaftsdepartement befugt, nach Fühlungnahme mit den Kantonen und den beteiligten Organisationen Qualitätsvorschriften für Fleisch aufzustellen.

³In Verbindung mit den in den Absätzen 1 und 2 erwähnten Vorschriften sind auch Anforderungen über die Kontrolle durch amtliche Stellen und Sachverständige zu treffen.

- Art. 60

¹Fleisch und Fleischwaren jeder Art, die in den Verkehr gebracht werden, müssen den Vorschriften dieser Verordnung entsprechen. Sie dürfen nicht verfälscht, verdorben, verunreinigt oder gesundheitsschädlich sein oder unzulässige Stoffe enthalten etc.

c) Verordnung über Lebensmittel und Gebrauchsgegenstände
(Lebensmittelverordnung vom 26. Mai 1936)

In der Lebensmittelverordnung findet sich noch folgender Artikel:

- Art. 6

¹Lebensmittel dürfen Stoffe und Organismen nur in Mengen enthalten, welche die menschliche Gesundheit nicht gefährden können.

²Lebensmittel dürfen nicht verdorben, verunreinigt oder sonst im Wert vermindert sein.

Aus diesen Artikeln geht hervor, dass heute schon auf Grund der allgemeinen Bestimmungen der Fleischschau bzw. der Lebensmittelverordnung Fleisch und Fleischwaren infolge unerwünscht hohem Keimgehalt beanstandet werden kann. Mit der nach Artikel 13 der Fleischschauverordnung neu zu erlassenden Mindestanforderungen an Fleischwaren wird zudem die Rechtsgrundlage präzisiert.

Zudem bestehen für die Beurteilung von Hackfleisch heute schon Weisungen des Bundesamtes für Veterinärwesen vom 1. Juli 1970, die folgende Richtwerte enthalten:

- aerobe Gesamtkeimzahl	unter 10^7 / g
- Enterobacteriaceenzahl	unter 10^4 / g
- koagulase positive Staphylokokken	unter 10^3 / g
- Salmonellen	in 10 g nicht nachweisbar

d) Verordnung über die Mindestanforderungen an Fleischwaren
(Vorentwurf des Bundesamtes für Veterinärwesen vom März 1979)

4. Abschnitt: Mikrobiologische Anforderungen

- Artikel 5: Grenzwert

Als Mindestanforderung an die Hygiene bei Fleischwaren gilt der Grenzwert. Der Grenzwert setzt den Gehalt an Mikroorganismen und ihrer Toxine fest, bei dessen Ueberschreiten ein Produkt als verdorben oder als gesundheitsgefährdend zu beurteilen ist.

- Artikel 6: Grenzwert für die einzelnen Fleischwaren

¹Hitzebehandelte Fleischwaren wie Brüh- und Kochwürste, Kochschinken, gehackte Rindszunge:

- a. Salmonellen in 20 g nicht nachweisbar
- b. DN-ase positive Staphylokokken 10^4 / g
Enterotoxin nicht nachweisbar
- c. Clostridium perfringens 10^3 / g
- d. Enterobacteriaceae 10^5 / g

²Gereifte, schnittfeste Rohwürste wie Salami, Landjäger, Bauernschublig, rohe Bauernwürste:

- a. Salmonellen in 20 g nicht nachweisbar
- b. DN-ase positive Staphylokokken 10^4 / g
Enterotoxin nicht nachweisbar
- c. Clostridium perfringens 10^3 / g
- d. Enterobacteriaceae weniger als 10 / g
- e. Schimmelpilze im Brät 10^2 / g

³Streichfähige Rohwürste, Mettwürste und Teewürste:

- a. Salmonellen in 20 g nicht nachweisbar
- b. DN-ase positive Staphylokokken 10⁴ / g
Enterotoxin nicht nachweisbar
- c. Clostridium perfringens 10³ / g
- d. Enterobacteriaceae 10⁵ / g

⁴Hackfleischprodukte zum Rohverzehr wie Tartarfleisch:

- a. Salmonellen in 20 g nicht nachweisbar
- b. DN-ase positive Staphylokokken 10⁴ / g
Enterotoxin nicht nachweisbar
- c. Clostridium perfringens 10³ / g
- d. Enterobacteriaceae 10⁵ / g
- e. Pseudomonas aeruginosa 10⁴ / g

e) Reglement betreffend die Erhebung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen
(Probenerhebungsreglement vom 16. April 1929)

Was die Technik der Probenahme betrifft, gilt das Probenerhebungsreglement vom 16. April 1929. Es sei insbesondere Art. 3 Absatz 2 genannt:

- Art. 3

²Die einzelne Probe ist so zu bemessen, dass die Menge, von besonderen Fällen abgesehen, nicht nur für die ordentlichen Untersuchungen, sondern auch für allfällige spätere Nachprüfungen ausreicht.

f) Instruktion für die Fleischschauer:

Zudem gilt die Instruktion für die Fleischschauer, die auf den Artikeln 12 und 48 der Fleischschauverordnung beruht und folgende relevante Bestimmungen enthält: Anhang A Punkt 4, der sinngemäss das gleiche aussagt wie obiges Reglement Art. 3 Absatz 2.

II. BELASTUNG DES FLEISCHES MIT MIKROORGANISMEN

Muskelfleisch von gesunden Tieren, das einwandfrei gewonnen wurde, enthält normalerweise Keime nur an der Oberfläche. In tiefen Schichten der Muskulatur sind Mikroorganismen nur dann vorhanden, wenn das Fleisch von erschöpften oder kranken Tieren stammt. NOSKOVA (1)

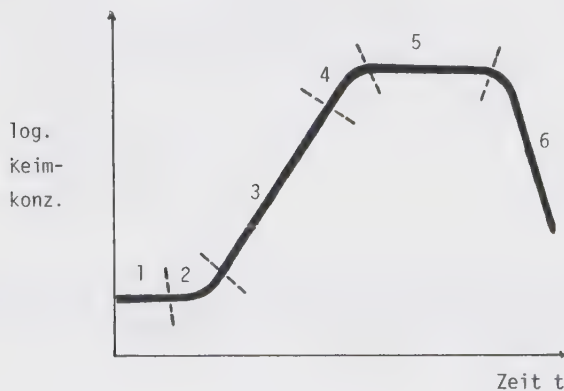
Die Keimbelastung des Frischfleisches ist grundsätzlich abhängig

- von der Schlachthygiene
- von der Hygiene der Be- und Verarbeitung, wobei der zügige Arbeitsablauf von der Zerlegung bis Abpackung eine wesentliche Rolle spielt
- vom Zerkleinerungsgrad
- von der Kühlkette, die nach Möglichkeit ununterbrochen in Gefrierpunktsnähe liegen soll. HESS, RUOSCH, BREER (30)

III. EINFLUSS DER KUEHLUNG AUF DAS BAKTERIENWACHSTUM

Es ist eine altbekannte Tatsache, dass tiefe Temperaturen einen hemmenden Einfluss auf das Bakterienwachstum ausüben. Es gibt allerdings auch Keimarten, die an Kälte adaptiert sind. Sie vermehren sich, wenn auch langsam, nach den gleichen Gesetzmässigkeiten wie meso- oder thermophile Mikroorganismen.

Abb. (1) Wachstumskurve



Wachstumskurve von Mikroorganismen
(nach Javetz, Melnick und Adelberg 1968)

- 1 Hemmphase
- 2 Beschleunigungsphase
- 3 logarithmische Phase
- 4 Verzögerungsphase
- 5 stationäre Phase
- 6 Absterbephase

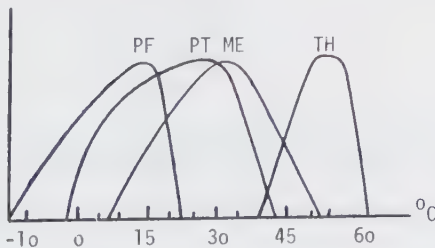
IV DEFINITION UND EINTEILUNG KAELTIELIEBENDER BAKTERIEN

INGRAHAM und STOKES (2) definieren Bakterien als psychrophil, wenn bei 0° C auf festen Nährböden innerhalb von zwei Wochen sichtbare Kolonien gebildet werden. STOKES (3) schlägt vor, die Beobachtungszeit auf eine Woche zu verkürzen. Diese Definition hat sich nun generell eingebürgert. ROSE (4)

Als psychrotroph definiert EDDY (5) Mikroorganismen, die sich bei 5° C und darunter noch vermehren.

Als psychrotolerant werden Keime bezeichnet, welche sich sekundär an tiefe Temperaturen adaptiert haben.

Abb. (2) Klassen von Temperaturempfindlichkeit MOSSEL (6)



PF = psychrophil

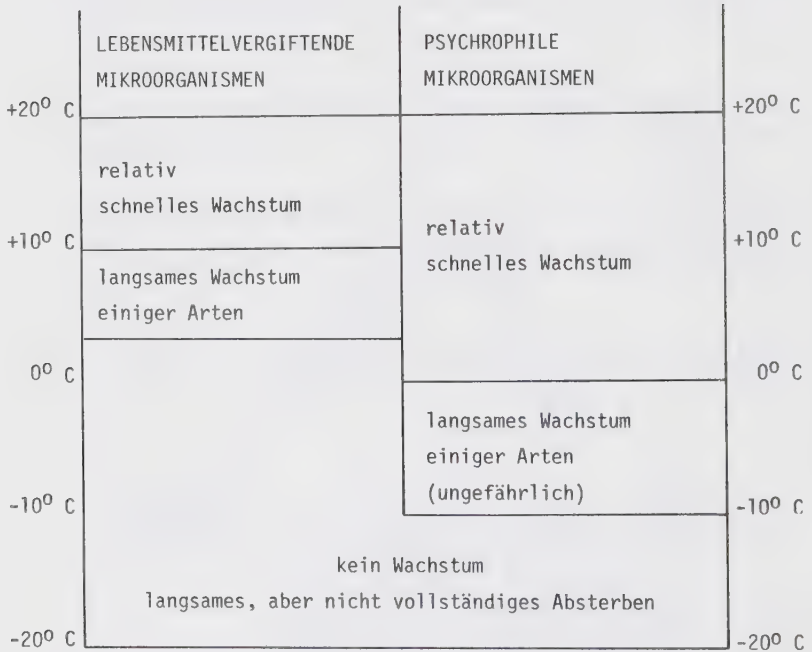
ME = mesophil

PT = psychrotroph

TH = thermophil

OHYE und SCOTT (7), SCHMIDT u.a. (8), EKLUND u.a. (9), haben gezeigt, dass es, für die Lebensmittelhygiene wichtige, psychrotrophe Bakterien gibt, nämlich *Clostridium botulinum* Typ B und *Clostridium botulinum* Typ E, die bei +3,30° C noch Toxine bilden können. Auch *Yersinia enterocolitica* kann sich bei Temperaturen, die etwas über 0° C liegen, noch langsam vermehren.

Abb. (3) Wachstum von lebensmittelvergiftenden und psychrophilen Mikroorganismen in verschiedenen Temperaturbereichen. ELLIOTT und MICHENER (10), SCHMIDT-LORENZ (11)



Unterer Temperaturbereich der Vermehrung von Mikroorganismen.

Linke Spalte : Pathogene und lebensmittelvergiftende Mikroorganismen

Rechte Spalte : Psychrophile apathogene Mikroorganismen, die einen mikrobiellen Verderb der Produkte verursachen

V. EINFLUSS DES GEFRIERPROZESSES AUF MIKROORGANISMEN

Nach SCHMIDT-LORENZ (12) bewirkt jedes Gefrieren und Auftauen die Abtötung oder Inaktivierung eines gewissen Anteils der in einem Lebensmittel vorkommenden Mikroorganismen.

ELLIOTT und MICHENER (10) fanden, dass die Ueberlebensrate in Lebensmitteln zwischen 1 - 100 %, im Durchschnitt bei 50 % lag. In saurem Medium war die Ueberlebensrate kleiner.

BERND STILLE (13) verzeichnete in Keimsuspensionen mit physiologischer Kochsalzlösung, die bei -24°C eingefroren und sofort wieder aufgetaut wurden, eine mittlere Abnahme der Keimzahlen von 28,2 % bis 93,6 %, mit einem extremen Schwankungsbereich von 19,7 % bis 99,2 %.

SCHMIDT-LORENZ und J. GUTSCHMIDT (14) haben Rindfleisch und rohes Hackfleisch bei -30°C eingefroren. Nach dem Auftauen waren die Bakterienzahlen gegenüber dem Ausgangsmaterial um mehr als 80 % verringert.

VI. EINFLUSS DER EINFRIERGESCHWINDIGKEIT AUF MIKROORGANISMEN

BERND STILLE (13) verglich die Absterbequoten von in physiologischer NaCl-Lösung suspendierten Reinkulturen von *Saccharomyces cerevisiae* und *Bacterium prodigiosum* nach dem Schockgefrieren bei -193°C und nach dem Einfrieren bei -24°C . Der Autor kommt zum Schluss, dass die Absterbequote eindeutig abhängig ist von der Einfriergeschwindigkeit. Deshalb überlebten bei -193°C mehr Keime als bei -24°C .

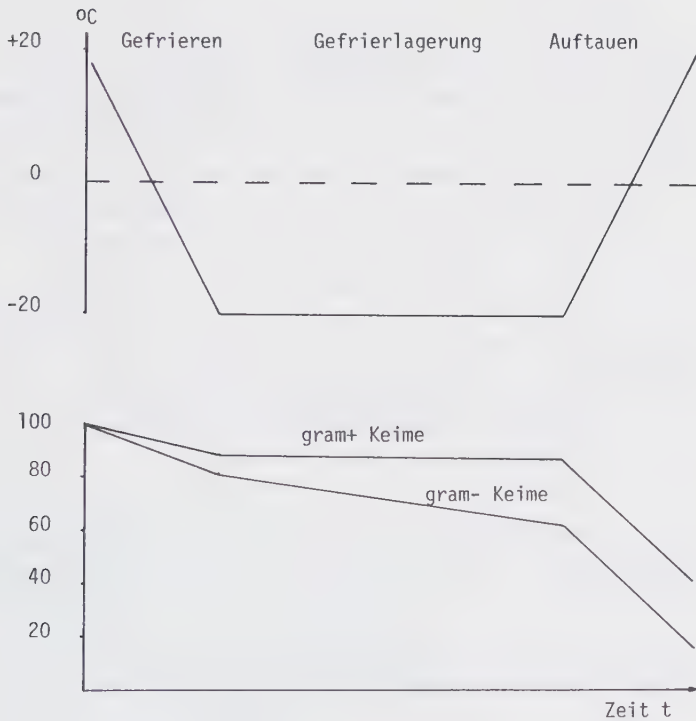
GEORG BORGSTROM (15) kam teilweise zu ähnlichen Ergebnissen.

VII. UNTERSCHIEDLICHES VERHALTEN GRAMPOSITIVER UND GRAMNEGATIVER KEIME WÄHREND DER GEFRIERLAGERUNG

Grampositive und gramnegative Keime sind nicht im gleichen Mass gefrier-resistent. M.O. BURTON (16) stellte auf der Suche nach einem zuverlässigen Fäkal-Indikator in gefrorenen Lebensmitteln fest, dass coliforme Keime bei Gefrierlagerung fortlaufend absterben, während die Zahl der Enterokokken mehr oder weniger konstant blieb. Diese Ergebnisse wurden von C. IENISTEA und P. PLECEAS (17) bestätigt. Sie untersuchten in Zellophan verpackte Hackfleischproben, die bei -20°C tiefgekühlt und aufbewahrt wurden. Während sich die Zahl der Enterokokken nicht wesentlich änderte, sank die Gesamtzahl der aeroben mesophilen und der psychrotrophen, speziell der coliformen Bakterien während der Tiefkühl-lagerung kontinuierlich.

SCHMIDT-LORENZ und J. GUTSCHMIDT (18) verfolgten bei Brathähnchen, die bei -30°C gelagert wurden, während mehr als einem Jahr die Mikroorganismenentwicklung sowohl qualitativ als auch quantitativ. Im zwei Wochen alten, tiefgefrorenen Ausgangsmaterial war die Bakterienflora zu 30 % aus grampositiven Arten der sogenannten CBM - Gruppe (Coryne-, Brevi und Microbacterium), Milchsäurebakterien, Micrococcus- und Gaffkya-Arten und zu 70 % aus gramnegativen Arten wie Pseudomonas, Aeromonas und Vibrio zusammengesetzt. Nach über einjähriger, konstanter Tiefgefrierlagerung bei -30°C war die Anzahl vermehrungsfähiger Bakterien um annähernd 60 % vermindert. Die Flora bestand dann im Gegensatz zum Ausgangsmaterial zu 70 % aus grampositiven und zu 30 % aus gramnegativen Bakterien. Durch langfristige Gefrierlagerung werden also vor allem die gramnegativen Keime inaktiviert, während die grampositiven Bakterien weitgehend gefrier-resistent sind.

Abb. (4) Schematische graphische Darstellung der Wirkung von Gefrieren und Auftauen bzw. von Gefrierlagerung auf die Absterbegeschwindigkeit von gramnegativen und grampositiven Bakterien in Lebensmitteln. SCHMIDT-LORENZ (12)



obere Kurve : Temperaturverlauf

untere Kurve: prozentuale Keimzahlreduktion von gramnegativen
und grampositiven Bakterien

Nach Befunden SCHMIDT-LORENZ'S (12) beruht die hohe Empfindlichkeit der gramnegativen Bakterien primär auf einer Denaturierung der dem Murein aufgelagerten Lipoproteine.

VIII. PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE KONSERVIERUNGSMETHODEN

Prinzipiell stehen für die Konservierung von Keimen in Lebensmitteln physikalische und chemische Verfahren zur Verfügung. Bei der Vielzahl der in einem Lebensmittel möglicherweise vorhandenen Mikroorganismen mit ihren unterschiedlichen Resistenzeigenschaften müssen mehrere Hemmfaktoren kombiniert werden. HEESCHEN u.a. (19). Damit können die einzelnen bakteriostatisch beziehungsweise bakterizid wirkenden Faktoren reduziert werden. MOSSEL (6). So genügte in Versuchen von WODZINSKI und FRAZIER (20) (21) zur Hemmung von *Pseudomonas fluorescens* und von *Aerobacter aerogenes* ein weniger restriktiver a_w -Wert, wenn der pH-Wert und die Temperatur gleichzeitig suboptimal waren. Auch die Hemmphase war bei der Faktorenkombination verlängert.

IX. HEMMZUSATZGE, DIE SICH ALS KOMBINATION FÜR DIE KEIM-KONSERVIERUNG IN FLEISCHWAREN BEWAHRT HABEN

Borsäure: (H_3BO_3)

Borsäure wirkt durch Blockierung von Enzymen des Phosphatstoffwechsels. Ein besonderer Vorzug der Borsäure ist die sehr niedrige Dissoziationskonstante von $7,3 \times 10^{-10}$. Deshalb ist Borsäure auch im neutralen pH-Bereich noch so gut wie vollständig in undissoziiertem, also mikrobiologisch wirksamen Zustand vorhanden. LUECK (22)

Auch soll nach R. KUHN (23) die Borsäure durch Ausschalten des Wachstoffs Adermin (= Vitamin B_6) bakteriostatisch wirken. Adermin (= Pyridoxin) steht in naher Verbindung zu Pyridoxalphosphat, einem Coenzym, das zum Beispiel bei Decarboxylierungen und bei Transaminierungen im Stoffwechsel von Aminosäuren eine wichtige Funktion hat. KARLSON (24)

Wegen der relativ geringen Wirksamkeit muss Borsäure freilich in ziemlich hohen Konzentrationen angewendet werden. Der Hemmeffekt der Borsäure richtet sich hauptsächlich gegen Hefen. Schimmelpilze werden kaum, Bakterien nur teilweise, manche Arten überhaupt nicht gehemmt. LUECK (22)

Glycerin: ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$)

Glycerin ist mit Wasser und Alkohol in jedem Verhältnis mischbar. Es ist ein gutes Lösungsmittel für viele organische und anorganische Stoffe (u.a. auch für Borsäure). R. KUHN (23)

Sorbinsäure: ($\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$)

Die nachfolgenden Angaben sind LUECK (25) sowie VOGEL und PRAHL (26) entnommen. Die Keimhemmung von Sorbinsäure ist durch seine Reaktion mit mehreren Enzymen zu erklären:

Im Kohlenhydratstoffwechsel werden nachfolgende Enzyme gehemmt:

- Enolasen
- Lactatdehydrogenase
- Alkoholdehydrogenase
- im Zitronensäurezyklus:
 - Malatdehydrogenase
 - Isocitratdehydrogenase
 - Fumarase
 - Aspartase
- Coenzym A
- Cytochrom - C - Oxydase

Hemmwirkung auf SH - Enzyme:

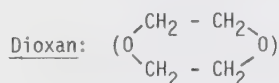
- Sorbinsäure kann Enzyme durch kovalente Bindungen mit ihren SH - Gruppen inaktivieren.

Einfluss auf Katalase und Peroxidase:

- Die Hemmung der Katalase und Peroxidase beruht auf einer Reaktion der nicht dissoziierten Säure mit der Häminkomponente des Fermentes.

Wirkungsspektrum:

- Bakterien: Gute Hemmwirkung bei katalase-positiven Keimen, geringe Wirkung gegen Milchsäurebakterien, keine Hemmwirkung bei Clostridien
- Schimmelpilze und Hefen: Gute Hemmwirkung



Dioxan ist eine farblose, ölige Flüssigkeit, die sich mit Wasser, Alkohol und Aether in jedem Verhältnis mischt. 1,4 - Dioxan ist als universelles Lösungsmittel für Harze, Wachse, Celluloseester und -ether, Fette, Farbstoffe in der chemischen Technik und im Laboratorium von Bedeutung. ROEMPP (23)

Chlorierungsprodukte des Dioxans wirken insektizid. ROEMPP (23), W. STUMPF (27)

Nach SITRAM S. PAWAR und AVINASH M. MUNGIKAR (28) ist es sehr gut möglich, dass Dioxan infolge seiner Lipophilie Lipoproteinbestandteile des endoplasmatischen Retikulums bindet und dadurch mikrosomale Enzymsysteme beeinflusst.

X. BEISPIEL EINER HEMMSTOFFKOMBINATION

HEESCHEN u.a. (19) hat auf Grund umfangreicher Versuche folgende Kombination von Hemmstoffen zur Konservierung von Milchproben empfohlen.

- Ortho - Borsäure (H_3BO_3)	50,00 g
- Kalium - Sorbat ($CH_3-CH=CH-CH_2-COOK$)	0,75 g
- Glycerin ($CH_2OH-CHOH-CH_2OH$)	10,00 g
- Methylenblaulösung (1 %)	0,50 ml
- Aqua dest.	ad 1000 ml

Mit dem Lyophilisat aus 1,18 ml der obigen Mischung werden 10 ml Milch konserviert.

C) EIGENE VERSUCHE

Bei meiner Suche nach einer möglichen Konservierungsmethode von Keimen bin ich immer vom Grundsatz ausgegangen, ein möglichst einfaches und billiges Verfahren zu entwickeln, um Keime in Fleischwaren (-proben) während 21 Tagen zu konservieren. Einfach in dem Sinne, dass es sowohl in der Praxis als auch im Labor ohne allzu grossen Aufwand anwendbar ist.

I. MATERIAL

Um zu brauchbaren Ergebnissen zu kommen, musste ich für meine Versuche Fleisch in möglichst fein zerteilter Form verwenden, damit ein Material zur Verfügung stand, das sich optimal homogenisieren liess. Dazu eignete sich vor allem Hackfleisch.

Die gesamte Masse wurde vor Versuchsbeginn in Plastikbeuteln so intensiv geknetet, dass eine gleichmässige Keimverteilung resultierte. Diese Methode hat sich bei früheren Arbeiten des Instituts bewährt. HESS, LOTT (29); HESS, RUOSCH, BREER (30)

In ersten Vorversuchen wurde der Keimgehalt vor und nach Behandlung verglichen. In den nachfolgenden Experimenten wurde eine Lagerung angeschlossen. Im Hauptversuch testete ich die aussichtsreichste Kombination sowohl mit Hackfleisch als auch mit Wurstwaren.

II. METHODIK

Zunächst wurde das zu untersuchende Probenmaterial mit Konservierungsmedium versetzt. Um die Arbeit im Labor einfach zu gestalten und Fehlerquellen nach Möglichkeit auszuschliessen, wurde

die Konzentration so gewählt, dass gleiche Teile Fleisch und Konservierungsmedium gemischt werden konnten.

Um die für die quantitative bakteriologische Untersuchung erforderliche Grundverdünnung von 1:10 zu erhalten, wurde das im Verhältnis 1:2 mit Konservierungsmedium vorverdünnte Probenmaterial mit 4 Teilen Verdünnungsflüssigkeit versetzt. Wir verwendeten physiologische Kochsalzlösung 0,85 % mit einem Zusatz von 1 % Pepton als Schutzkolloid.

Diese Grundverdünnung wurde im Stomacher während 1 Minute homogenisiert. Nach einer Absetzzeit von höchstens 20 Minuten wurde aus der wässrigen Phase eine dekadische Verdünnungsreihe hergestellt. Dabei wurde der Röhrcheninhalt unmittelbar vor jeder Entnahme mit Hilfe des Quirlmixers (Vortex-Genie) homogenisiert und für jede Verdünnungsstufe eine neue Pipette verwendet.

Beimpfen der Nährböden:

- Tropfmethode: (Drop-Plating)

Von der jeweiligen Verdünnungsstufe werden 2 X 0,05 ml auf den Nährboden aufgetropft.

- Ausstrichmethode:

Von der jeweiligen Verdünnungsstufe werden 2 X 0,05 ml auf den Nährboden aufgetropft und mit einem sterilen Spatel auf der Agaroberfläche gleichmäßig verteilt.

- Gussmethode:

Die Petrischale wird mit 1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe beschickt und mit Nähragar, dessen Temperatur nicht über 50° C liegen darf, übergossen und vermischt.

Selektive Züchtung von Bakterien:

- Aerobe Gesamtkeimzahl

Nährboden	:	Keimzählagar (Plate Count Agar) BBL 11643
Beimpfung	:	Tropfmethode
Bebrütung	:	aerob bei 30° C
Bebrütungszeit	:	48 Stunden

- Enterobacteriaceen

Nährboden	:	Violet Red Bile Agar + Zusatz von 1 % Glukose BBL 1180
Beimpfung	:	Tropfmethode
Bebrütung	:	anaerob bei 30° C
Bebrütungszeit	:	48 Stunden

- Staphylokokken

Nährboden	:	Baird - Parker Agar mit Eigelb und Kaliumtellurit. Oxoid CM 275
Beimpfung	:	Ausstrichmethode
Bebrütung	:	anaerob bei 37° C
Bebrütungszeit	:	48 Stunden

- Clostridien

Nährboden	:	TSN Agar BBL 11690
Beimpfung	:	Gussmethode
Bebrütung	:	anaerob bei 37° C
Bebrütungszeit	:	48 Stunden

III. VORVERSUCHE

I. Homogenisierungsversuch

Anhand von 6 Versuchen mit je 5 Parallelproben wurde bewiesen, dass die angewandte Technik der Homogenisierung bei Hackfleisch zu einer optimalen Keimverteilung führt: Handelsübliches Hackfleisch wurde in Plastikbeuteln 100 Mal von Hand intensiv durchgeknetet.

Die Mischung von Hackfleisch + Konservierungsmittel konnte später - als halbflüssige Masse - während 1 Minute im Stomacher homogenisiert werden.

Resultate:

In der nachstehenden Tabelle sind die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ sowie die maximalen Differenzen zu $\bar{x}_G$ von je 5 Parallelproben aufgeführt. Ermittelt wurde jeweils die aerobe Gesamtkeimzahl (GK) und die Zahl der Enterobacteriaceen (Entero).

Versuch 1 :	GK	:	$\bar{x}_G$	=	$83,4 \times 10^6$	+ 13,9 % - 28,1 %
	Entero:		$\bar{x}_G$	=	$71,3 \times 10^4$	+ 6,5 % - 7,5 %
Versuch 2 :	GK	:	$\bar{x}_G$	=	$140,3 \times 10^6$	+ 18,3 % - 29,4 %
	Entero:		$\bar{x}_G$	=	$55,8 \times 10^4$	+ 18,4 % - 13,9 %
Versuch 3 :	GK	:	$\bar{x}_G$	=	$135,8 \times 10^6$	+ 6,1 % - 10,9 %
	Entero:		$\bar{x}_G$	=	$120,9 \times 10^5$	+ 20,9 % - 26,6 %
Versuch 4 :	GK	:	$\bar{x}_G$	=	$253,0 \times 10^7$	+ 16,2 % - 12,3 %
	Entero:		$\bar{x}_G$	=	$72,3 \times 10^6$	+ 7,9 % - 5,9 %
Versuch 5 :	GK	:	$\bar{x}_G$	=	$182,5 \times 10^6$	+ 22,8 % - 10,7 %
	Entero:		$\bar{x}_G$	=	$82,2 \times 10^4$	+ 39,9 % - 14,8 %
Versuch 6 :	GK	:	$\bar{x}_G$	=	$254,1 \times 10^4$	+ 23,6 % - 22,5 %
	Entero:		$\bar{x}_G$	=	$97,9 \times 10^2$	+ 24,7 % - 21,3 %

2. Versuch mit verschiedenen Gefriertemperaturen

In einem Plastiksack wurde 2,5 kg Hackfleisch durch intensives manuelles Kneten während 25 Minuten homogenisiert. Darauf füllte ich das Hackfleisch unter sterilen Kautelen in Portionen zu zirka 150 g in 16 Plastiktüten ab. Um den Anfangskeimgehalt zu ermitteln, entnahm ich sofort aus sechs dieser Plastiksäcke etwas Probematerial, um die aerobe Gesamtkeimzahl und die Zahl der Enterobacteriaceen zu bestimmen. Acht dieser Beutel wurden schockgefroren, je vier entweder in flüssigem Stickstoff beziehungsweise zwischen Trockeneisplatten. Vier weitere Portionen wurden in einem Gefrierraum bei -28°C und die vier letzten in einer Tiefkühltruhe bei -18°C eingefroren. Das schockgefrorene Material kam dann für 30 Stunden in die Tiefkühltruhe. Alle 16 Beutel wurden zur gleichen Zeit über Nacht in einem Kühlschrank bei $+5^{\circ}\text{C}$ aufgetaut. Am folgenden Morgen wurde die Zahl der Enterobacteriaceen sowie die aerobe Gesamtkeimzahl aller 16 Proben ermittelt. Verglichen wurden die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ der Keimzahlen aus den 4 Proben, die jeweils gleichartig eingefroren und gelagert worden waren.

Resultate:

Für die nachstehende Tabelle wurden die prozentualen Aenderungen der Keimzahlen, bedingt durch das Einfrieren, berechnet. Aufgeführt werden die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ dieser Aenderungen von jeweils 17 Wiederholungsversuchen.

<u>Einfriermethode</u>	<u>Keimart</u>	<u>$\bar{x}_G$</u>
Flüssiger Stickstoff (-195,8° C)	GK ^{a)}	20,4 %
	Enterob ^{b)}	75,4 %
Trockeneis (- 78,5° C)	GK	28,5 %
	Enterob	35,7 %
Gefriererraum (- 28° C)	GK	25,8 %
	Enterob	47,7 %
Tiefkühltruhe (- 18° C)	GK	35,0 %
	Enterob	56,7 %

a) GK = aerobe Gesamtkeimzahl

b) Enterob = Enterobacteriaceenzahl

Befund:

Die Zahl der Enterobacteriaceen nahm bei allen Einfriermethoden wesentlich mehr ab als die aerobe Gesamtkeimzahl. Eine Beziehung dieser Keimabnahme zur Gefriertemperatur bzw. -geschwindigkeit lässt sich nicht ableiten.

3. Versuch mit verschiedenen Gefriertemperaturen unter Zusatz von Glycerin

Hackfleisch wurde in mehrere Plastiksäcke gefüllt, gründlich homogenisiert und nachdem eine Probe entnommen worden war, im Gewichtsverhältnis von 1 : 1 mit Glycerin vermischt und nochmals optimal homogenisiert. Die Hälfte der Säcke wurde bei $-195,8^{\circ}\text{C}$ in flüssigem Stickstoff schockgefroren, bzw. bei -18°C in einer Tiefkühltruhe eingefroren. Das schockgefrorene Material kam dann für 30 Stunden in eine Tiefkühltruhe. Um für alle Proben identische Auftaubedingungen zu gewährleisten, wurde das Material in soviel physiologischer Kochsalzlösung von Zimmertemperatur aufgeschwemmt, dass die Grundverdünnung (10^{-1} Verdünnung) resultierte.

Resultate:

In der nachstehenden Tabelle sind die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ der prozentualen Abweichungen von jeweils 17 Wiederholungsversuchen aufgeführt.

<u>Einfriermethode</u>	<u>Keimart</u>	<u>$\bar{x}_G$</u>
Flüssiger Stickstoff ($-195,8^{\circ}\text{C}$)	GK ^{a)}	22,0 %
	Entero ^{b)}	41,7 %
Tiefkühltruhe (-18°C)	GK	12,2 %
	Entero	33,6 %

a) GK = aerobe Gesamtkeimzahl

b) Entero = Enterobacteriaceenzahl

Befund:

Auch in diesen Versuchen nahm die Zahl der Enterobacteriaceen wesentlich mehr ab als jene der aeroben Gesamtkeimzahl.

4. Versuch mit verschiedenen Gefriertemperaturen und unterschiedlichen Zusätzen

Die Konservierungsmedien wurden dem Untersuchungsgut immer im Gewichtsverhältnis 1 : 1 beigemischt. Jede Versuchsgruppe bestand aus sechs Parallelproben. Die eine Hälfte der Beutel wurde bei $-195,8^{\circ}\text{C}$, die andere bei -18°C eingefroren. Sämtliche Beutel wurden während 30 Stunden bei -18°C gelagert. Um für alle Proben identische Auftaubedingungen zu gewährleisten, wurde das Material in soviel physiologischer Kochsalzlösung von Zimmertemperatur aufgeschwemmt, dass die Grundverdünnung (10^{-1} Verdünnung) resultierte.

Da aus den bisherigen Versuchen eindeutig hervorging, dass die Keimzahländerungen namentlich die Enterobacteriaceen betraf, unterliess ich in den nachfolgenden Gefrierversuchen die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl.

Resultate:

Entwicklung der Enterobacteriaceenzahl je nach Konservierungsmedium und Gefriertemperatur.

Konservie- rungsart	Versuch ^{b)}	$\bar{x}_G$ vor Konservierung	Einfriertem- peratur °C	$\bar{x}_G$ nach Konservierung	Abweichi- in %
A	1	55,1 x 10 ²	-195,8	52,0 x 10 ²	- 6
			- 18	60,0 x 10 ²	+ 9
	2	53,7 x 10 ⁵	-195,8	13,1 x 10 ⁵	- 76
			- 18	21,9 x 10 ⁵	- 59
B	1	60,5 x 10 ²	-195,8	37,8 x 10 ²	- 38
			- 18	59,9 x 10 ²	- 1
	2	116,5 x 10 ⁴	-195,8	31,0 x 10 ⁴	- 73
			- 18	77,2 x 10 ⁴	- 33
C	1	50,8 x 10 ²	-195,8	36,4 x 10 ²	- 28
			- 18	48,7 x 10 ²	- 4
	2	56,7 x 10 ⁵	-195,8	9,8 x 10 ⁵	- 83
			- 18	22,7 x 10 ⁵	- 60
D	1	77,7 x 10 ²	-195,8	109,0 x 10 ²	+ 40
			- 18	71,8 x 10 ²	- 8
	2	68,0 x 10 ⁵	-195,8	17,3 x 10 ⁵	- 75
			- 18	31,2 x 10 ⁵	- 54

- a) A = 50 Teile 2,5 %ige Peptonlösung + 50 Teile Paraffinöl
 B = 50 Teile 2,5 %ige Peptonlösung + 25 Teile Paraffinöl + 25 Teile Glycerin
 C = 100 Teile 2,5 %ige Peptonlösung
 D = 100 Teile Paraffin

b) Je Versuch 6 Parallelproben

Befund:

Aus den Versuchen geht hervor, dass die Enterobacteriaceenzahl (mit einer Ausnahme) bei -195,8° C stärker abnimmt als bei -18° C. Bei allen Proben mit hoher Anfangs-keimbelastung ist die prozentuale Absterbequote grösser. Ein unterschiedlicher Einfluss der verschiedenen Zusatzmedien ist nicht ersichtlich.

5. Versuch mit Zugabe von Dioxan

Die Versuche wurden in drei Gruppen mit Dioxankonzentrationen von 5-, 10- und 15 % durchgeführt. (Dieses Medium mischte ich im Gewichtsverhältnis 1 : 1 dem Hackfleisch bei.)

Konservierungsmedium:

5-, 10- bzw. 15 Teile Dioxan

95-, 90- bzw. 85 Teile modifizierte physiologische Kochsalzlösung
(= 2 %ige Pepton- + 0,85 %ige NaCl-Lösung)

Lagerung:

In der Tiefkühltruhe bei -18°C , die Parallelproben im Kühlraum bei $+10^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$.

Lagerzeit:

7 Tage

Jede der drei Gruppen bestand aus 2×4 Parallelproben. Die Gruppe der tiefgefrorenen Proben wurde in der Verdünnerflüssigkeit der 10^{-1} Verdünnung aufgetaut. Untersucht und mit dem Ausgangswert verglichen wurde nur die Enterobacteriaceenzahl.

Resultate:

In der nachstehenden Tabelle sind die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ der Enterobacteriaceenzahl von je 4 Parallelproben vor und nach der Konservierung und Lagerung aufgeführt.

Gruppe	Dioxan- konz.	Lager- zeit	Lager- temp.	$\bar{x}_G$ vor Konservierung	$\bar{x}_G$ nach Konservierung	Abweichung in %
A	5 %	7 Tage	-18° C	143,2 x 10 ⁵	10,6 x 10 ³	- 99
			+ 1° C	147,2 x 10 ⁵	188,0 x 10 ⁵	+ 27
B	10 %	7 Tage	-18° C	140,3 x 10 ⁵	0	- 100
			+ 1° C	132,1 x 10 ⁵	127,8 x 10 ⁵	- 3
C	15 %	7 Tage	-18° C	137,3 x 10 ⁵	0	- 100
			+ 1° C	145,2 x 10 ⁵	142,7 x 10 ⁵	- 2

Befund:

Aus diesem Versuch könnte man den Schluss ziehen, dass Dioxan in Kombination mit Kühlagerung bei + 1° C ± 1° C nur geringe Keimzahländerungen bewirkt. Dabei wären Dioxankonzentrationen von 10- und 15 % besser als Beigaben von 5 %. Dagegen starben bei -18° C und Dioxanzugabe praktisch alle Keime ab.

6. Versuche mit 12 % Dioxan und Kühlagerung bei $+ 1^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$
während 1, 2 und 3 Wochen

Die Versuche wurden in drei Gruppen mit je 5 Parallelproben durchgeführt. Die Konservierungsart war einheitlich, nur die Lagerdauer variierte. Das Konservierungsmedium wurde dem Untersuchungsgut im Gewichtsverhältnis 1 : 1 beigemischt.

Konservierungsmedium:

12 Teile Dioxan

88 Teile modifizierte physiologische Kochsalzlösung
(= 2 %ige Pepton- + 0,85 %ige NaCl-Lösung)

Lagerung:

Im Kühlraum bei $+ 1^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$

Lagerzeiten:

Gruppe A : 7 Tage

Gruppe B : 14 Tage

Gruppe C : 21 Tage

Untersucht wurde die aerobe Gesamtkeimzahl sowie die Enterobacteriaceenzahl.

Resultate:

In der nachstehenden Tabelle sind die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ von je 5 Parallelproben vor und nach der Konservierung und Lagerung aufgeführt.

Gruppe	Lagerzeit	Lager-temp.	Keimart	$\bar{x}_G$ vor Konservierung	$\bar{x}_G$ nach Konservierung	Abweichung in %
A	7 Tage	+ 10° C	GK ^{a)}	167,7 x 10 ⁶	85,9 x 10 ⁶	- 50
			Enterob ^{b)}	344,0 x 10 ⁴	131,9 x 10 ⁴	- 62
B	14 Tage	+ 10° C	GK	193,3 x 10 ⁶	126,5 x 10 ⁶	- 35
			Enterob	316,4 x 10 ⁴	227,6 x 10 ⁴	- 28
C	21 Tage	+ 10° C	GK	201,9 x 10 ⁶	93,2 x 10 ⁶	- 54
			Enterob	319,6 x 10 ⁴	116,1 x 10 ⁴	- 64

a) aerobe Gesamtkeimzahl

b) Enterobacteriaceenzahl

Befund:

Der Dioxanzusatz von 12 % kombiniert mit einer Kühlung bei + 10° C + 10° C hatte in allen Versuchsgruppen eine merkliche Keimreduktion zur Folge.

7. Versuch mit dem Konservierungsmedium^{a)} nach Heesch

Die Versuche wurden in drei Gruppen mit je 5 Parallelproben durchgeführt. Die Konservierungsart war einheitlich, nur die Lagerdauer variierte.

Konservierungsmedium: HEESCHEN u.a. (19)

Borsäure		50,00 g
K-Sorbat		0,75 g
Glycerin		10,00 g
Aqua Dest.	ad	1000,00 g

Von obiger Lösung wurden 336 g mit modifizierter physiologischer Kochsalzlösung (2 %ige Pepton- + 0,85 %ige NaCl-Lösung) auf 1000 g aufgefüllt. Dieses Konservierungsmedium wurde dem Hackfleisch im Gewichtsverhältnis 1 : 1 beigemischt.

Untersucht wurde die aerobe Gesamtkeimzahl sowie die Zahl der Enterobacteriaceen.

a) Im Unterschied zur Originalmischung wurde Methylenblaulösung weggelassen und die Konzentration des Konservierungsmediums erhöht.

Resultate:

In der nachstehenden Tabelle sind die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ von je 5 Parallelproben vor und nach der Konservierung und Lagerung aufgeführt.

Gruppe	Lagerzeit	Lager-temp.	Keimart	$\bar{x}_G$ vor Konservierung	$\bar{x}_G$ nach Konservierung	Abweichung in %
A	7 Tage	+ 10° C	GK ^{a)}	117,3 x 10 ⁶	89,1 x 10 ⁶	- 24
				64,6 x 10 ⁵	38,3 x 10 ⁵	- 41
				75,4 x 10 ⁵	127,2 x 10 ⁵	+ 69
				62,5 x 10 ⁵	58,4 x 10 ⁵	- 7
			Enterob ^{b)}	115,3 x 10 ⁴	162,7 x 10 ⁴	+ 41
				302,1 x 10 ²	269,8 x 10 ²	- 11
				214,8 x 10 ²	194,2 x 10 ²	- 10
				143,6 x 10 ²	129,7 x 10 ²	- 10
			GK	141,4 x 10 ⁶	180,5 x 10 ⁶	+ 28
				62,8 x 10 ⁵	302,0 x 10 ⁵	+ 381
				71,6 x 10 ⁵	350,0 x 10 ⁵	+ 389
				59,2 x 10 ⁵	200,4 x 10 ⁵	+ 239
B	14 Tage	+ 10° C	GK	141,4 x 10 ⁶	180,5 x 10 ⁶	+ 28
				62,8 x 10 ⁵	302,0 x 10 ⁵	+ 381
				71,6 x 10 ⁵	350,0 x 10 ⁵	+ 389
				59,2 x 10 ⁵	200,4 x 10 ⁵	+ 239
			Enterob	139,2 x 10 ⁴	147,7 x 10 ⁴	+ 6
				336,0 x 10 ²	216,3 x 10 ²	- 36
				258,0 x 10 ²	200,9 x 10 ²	- 22
				130,9 x 10 ²	129,7 x 10 ²	- 1
			GK	127,4 x 10 ⁶	119,4 x 10 ⁶	- 6
				61,2 x 10 ⁵	+++ x 10 ⁵	+ c)
				72,0 x 10 ⁵	105,2 x 10 ⁷	+ c)
				60,8 x 10 ⁵	79,4 x 10 ⁷	+ c)
C	21 Tage	+ 10° C	GK	127,4 x 10 ⁶	119,4 x 10 ⁶	- 6
				61,2 x 10 ⁵	+++ x 10 ⁵	+ c)
				72,0 x 10 ⁵	105,2 x 10 ⁷	+ c)
				60,8 x 10 ⁵	79,4 x 10 ⁷	+ c)
			Enterob	124,1 x 10 ⁴	113,7 x 10 ⁴	- 8
				354,9 x 10 ²	247,3 x 10 ²	- 30
				224,1 x 10 ²	169,2 x 10 ²	- 25
				131,7 x 10 ²	118,2 x 10 ²	- 10

- a) aerobe Gesamtkeimzahl
- b) Enterobacteriaceen
- c) nicht zu berechnen

Befund:

Die Zahl der Enterobacteriaceen hat nach 1, 2 und 3 Wochen in der Regel leicht abgenommen, während diejenige der aeroben Gesamtkeimzahl nach 2 und 3 Wochen stark anstieg.

8. Versuch mit dem modifizierten Konservierungsmedium nach Heesch
und Zugabe von 3, 6 bzw. 9 % Dioxan

Die Versuche wurden in drei Gruppen mit je 5 Parallelproben durchgeführt. Die Konservierungsart unterschied sich nur in der Menge der Dioxanzugabe zum modifizierten Medium nach Heesch.

Art und Dauer der Konservierung:

Gruppe A:		336 g	Lösung nach Heesch, (siehe Seite 32)
		30 g	Dioxan (= 3 %)
	ad	1000 g	modifizierte physiologische Kochsalzlösung (2 %ige Pepton- + 0,85 %ige NaCl-Lösung)
Gruppe B:		336 g	Lösung nach Heesch
		60 g	Dioxan (= 6 %)
	ad	1000 g	modifizierte physiologische Kochsalzlösung
Gruppe C:		336 g	Lösung nach Heesch
		90 g	Dioxan (= 9 %)
	ad	1000 g	modifizierte physiologische Kochsalzlösung

Obige Konservierungsmedien wurden dem Hackfleisch im Gewichtsverhältnis 1 : 1 beigemischt.

Lagerzeit: 21 Tage

Lagertemperatur: Im Kühlraum bei $+ 1^{\circ} \text{C} + 1^{\circ} \text{C}$

Untersucht wurde die aerobe Gesamtkeimzahl sowie die Zahl der Enterobacteriaceen.

Resultate:

In der nachstehenden Tabelle sind die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ von je 5 Parellelproben vor und nach der Konservierung und Lagerung aufgeführt.

Gruppe	Dioxan-konz.	Lager-zeit	Lager-temp.	Keim-art	$\bar{x}_G$ vor Konservierung	$\bar{x}_G$ nach Konservierung	Abweichung in %
A	3 %	21 Tage	+1 ⁰ C	GK ^{a)}	$118,0 \times 10^5$	$80,0 \times 10^5$	- 32
				Entero ^{b)}	$275,4 \times 10^2$	$205,9 \times 10^2$	- 25
B	6 %	21 Tage	+1 ⁰ C	GK	$117,5 \times 10^5$	$70,4 \times 10^5$	- 40
				Entero	$254,9 \times 10^2$	$169,3 \times 10^2$	- 34
C	9 %	21 Tage	+1 ⁰ C	GK	$101,7 \times 10^5$	$49,5 \times 10^5$	- 51
				Entero	$274,8 \times 10^2$	$113,2 \times 10^2$	- 58

a) aerobe Gesamtkeimzahl

b) Enterobacteriaceenzahl

Befund:

In diesen Kombinationsversuchen nahm sowohl die Zahl der Enterobacteriaceen als auch die aerobe Gesamtkeimzahl mit steigender Dioxankonzentration stetig ab.

9. Versuch mit dem modifizierten Konservierungsmedium nach Heeschen und Zugabe von 1, 2 bzw. 3 % Dioxan

Die Versuche wurden in neun Gruppen mit je vier Parallelproben durchgeführt. Die Konservierungsart unterschied sich in der Menge der Dioxanzugabe zum modifizierten Medium nach Heeschen und in der Lagerdauer.

Art und Dauer der Konservierung:

336 g Lösung nach Heeschen (s.S. 32)

Gruppen A, B, C: 10 g Dioxan (= 1 %)

ad 1000 g modifizierte physiologische Kochsalzlösung (s.S. 32)

336 g Lösung nach Heeschen

Gruppen D, E, F: 20 g Dioxan (= 2 %)

ad 1000 g modifizierte physiologische Kochsalzlösung

336 g Lösung nach Heeschen

Gruppen G, H, I: 30 g Dioxan (= 3 %)

ad 1000 g modifizierte physiologische Kochsalzlösung

Die Konservierungsmedien wurden dem Hackfleisch im Gewichtsverhältnis 1 : 1 beigemischt.

Lagerzeiten : Gruppen A, D, G: 7 Tage

Gruppen B, E, H: 14 Tage

Gruppen C, F, I: 21 Tage

Lagertemperatur: Im Kühlraum bei $+1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

Untersucht wurde die aerobe Gesamtkeimzahl sowie die Zahl der Enterobacteriaceen.

Resultate:

In der nachstehenden Tabelle sind die geometrischen Mittel $\bar{x}_G$ von je 4 Parallelproben vor und nach der Konservierung und Lagerung bei +1° C + 1° C aufgeführt.

Gruppe	Dioxan-konz.	Lager-zeit	Keim-art	$\bar{x}_G$ vor Konservierung	$\bar{x}_G$ nach Konservierung	Abweichung in %
A	1 %	7 Tage	GK ^{a)}	139,0 x 10 ⁴	175,2 x 10 ⁴	- 26
			Enterob ^{b)}	21,2 x 10 ²	20,3 x 10 ²	- 4
B	1 %	14 Tage	GK	145,9 x 10 ⁴	184,3 x 10 ⁴	- 26
			Enterob	26,0 x 10 ²	19,1 x 10 ²	- 26
C	1 %	21 Tage	GK	35,8 x 10 ⁵	69,8 x 10 ⁶	+ 1853
			Enterob	43,1 x 10 ²	38,2 x 10 ²	- 11
D	2 %	7 Tage	GK	149,3 x 10 ⁴	198,5 x 10 ⁴	+ 33
			Enterob	26,5 x 10 ²	20,7 x 10 ²	- 22
E	2 %	14 Tage	GK	141,4 x 10 ⁴	116,7 x 10 ⁴	- 18
			Enterob	27,6 x 10 ²	18,5 x 10 ²	- 33
F	2 %	21 Tage	GK	45,2 x 10 ⁵	58,1 x 10 ⁵	+ 29
			Enterob	35,3 x 10 ²	30,6 x 10 ²	- 14
G	3 %	7 Tage	GK	146,0 x 10 ⁴	160,9 x 10 ⁴	+ 10
			Enterob	23,0 x 10 ²	20,0 x 10 ²	- 13
H	3 %	14 Tage	GK	149,5 x 10 ⁴	126,1 x 10 ⁴	- 16
			Enterob	26,4 x 10 ²	18,4 x 10 ²	- 30
I	3 %	21 Tage	GK	45,1 x 10 ⁵	110,5 x 10 ⁴	- 76
			Enterob	35,6 x 10 ²	20,0 x 10 ²	- 43

a) aerobe Gesamtkeimzahl

b) Enterobacteriaceenzahl

Befund:

- Bei Dioxankonzentrationen von 1 % blieb die Zahl der Enterobacteriaceen beinahe konstant, während diejenige der aeroben Gesamtkeime in der dritten Woche anstieg.
- Bei Dioxankonzentrationen von 2 % nahm die Zahl der Enterobacteriaceen leicht ab, während die Zahl der aeroben Gesamtkeime im Durchschnitt etwa konstant blieb.
- Bei Dioxankonzentrationen von 3 % nahm sowohl die Zahl der Enterobacteriaceen als auch diejenige der aeroben Gesamtkeime mit fortschreitender Lagerdauer ab.

IV. HAUPTVERSUCH

Nachdem sich im Versuch 9 die Kombination des modifizierten Mediums nach Heesch (19) mit Dioxanzugabe von 2 % und Lagertemperatur von $+1^{\circ}\text{C}$ $\pm$ 1°C als bisher beste Konservierungsart erwiesen hatte, wurde sie im folgenden mit verschiedenen Fleischwaren aus der Praxis getestet:

- Hitzebehandelte Fleischwaren: als Beispiel Cervelats, Aufschnitt
- Gereifte, schnittfeste Rohwürste: Beispiel Landjäger
- Streichfähige Rohwürste, Mettwürste, Teewürste: Beispiel Mettwurst
- Hackfleischprodukte zum Rohverzehr: Beispiel Hackfleisch

Der Vollständigkeit halber sei die Zusammensetzung der Konservierungslösung nochmals wiederholt:

Borsäure	50,00 g
K-Sorbat	0,75 g
Glycerin	10,00 g
Aqua dest.	ad 1000,00 g
<u>von obiger Lösung</u>	<u>336,00 g</u>
Dioxan	20,00 g
modifizierte physiologische Kochsalzlösung (2%ige Pepton- + 0,85%ige NaCl-Lösung)	ad 1000,00 g

Untersuchungsgang

Gearbeitet habe ich ausschliesslich mit Material, dass sich homogenisieren liess. Fleischwaren, die nicht zerkleinert waren, wie Cervelats, Aufschnitt, Landjäger, wurden zuerst mit dem Messer, dann mit einer "Moulinex"-Haushaltsmaschine, unter sterilen Kautelen in die gewünschte hackfleischähnliche Struktur übergeführt.^{a)}

- a) Um Mettwurstbrät zu homogenisieren, arbeitete ich etwas anders. Die Mettwürste wurden entzweigeschnitten und in eine sterile Schüssel ausgepresst, worauf die Masse mit Chirurgenhandschuhen geknetet wurde, um so eine möglichst gute Durchmischung zu erreichen.

Pro Versuch wurden etwa 400 - 500 g Untersuchungsgut in einem Plastiksack von Hand gut geknetet. Darauf habe ich das Probematerial in vier Plastikbeutel aufgeteilt. Aus den Keimzahlen dieser 4 Proben wurde das geometrische Mittel $\bar{x}_G$ errechnet. Dann wurde der Beutelinhalt zu gleichen Gewichtsteilen mit Konservierungsmedium versetzt. Im weiteren homogenisierte man das Gemisch während 1 Minute mit dem Stomacher (Colworth). Diese so bearbeiteten Beutel wurden dann während 21 Tagen bei $+1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ gelagert.

Nach 3 Wochen Lagerzeit wurde abschliessend aus jedem Plastiksack Material zur Keimzahlbestimmung entnommen. Das geometrische Mittel $\bar{x}_G$ dieser 4 Proben wurde dann mit dem entsprechenden Ausgangswert verglichen.

Versuch mit zwei Lagertemperaturen

Abschliessend interessierte noch, ob in der Praxis Temperaturschwankungen von $0 - 5^{\circ}\text{C}$ während der dreiwöchigen Lagerung der konservierten Proben ins Gewicht fallen.

Hackfleisch und Konservierungsmedium im Gewichtsverhältnis 1 : 1 wurde in 4 Plastiksäcke eingefüllt, homogenisiert und bei $+1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ bzw. $+5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ während drei Wochen gelagert.

Vor und nach der Lagerung wurde die aerobe Gesamtkeimzahl, sowie die Zahl der Enterobacteriaceen bestimmt. Die Ausgangszahlen wurden mit den entsprechenden Werten nach der Lagerung verglichen.

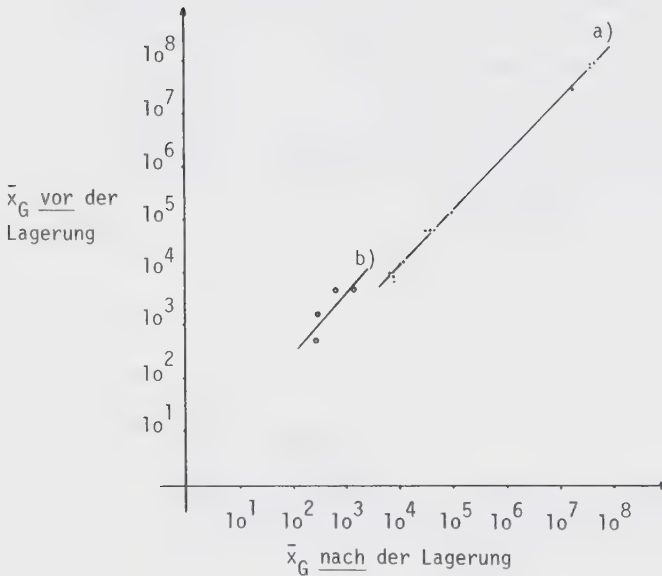
V. RESULTATE

In den nachfolgenden Abbildungen kennzeichnen die Punkte die jeweilige Korrelation der Keimzahlen vor und nach Konservierung und Lagerung. Jeder Punkt repräsentiert das geometrische Mittel $\bar{x}_G$ von jeweils 4 Parallelproben. Bestimmt wurde die Gesamtzahl aerober Keime sowie die der Enterobacteriaceen. Die Versuche wurden mit Cervelats, Aufschnitt, Landjäger, Mettwurst und Hackfleisch durchgeführt. Optimale Keimkonservierung wäre erreicht, wenn jeder Punkt auf der Winkelhalbierenden der X- und Y-Achse liegen würde.

Dargestellt werden meist auch (sofern es möglich ist) die Korrelationskoeffizienten und die Regressionsgeraden.

Abb. (5) CERVELATS: (Kommentar Seite 49)

- a) • = Gesamtzahl aerober Keime: 12 Versuche $\hat{=}$ 4 Parallelproben
b) • = Enterobacteriaceenzahl : 4 Versuche $\hat{=}$ 4 Parallelproben

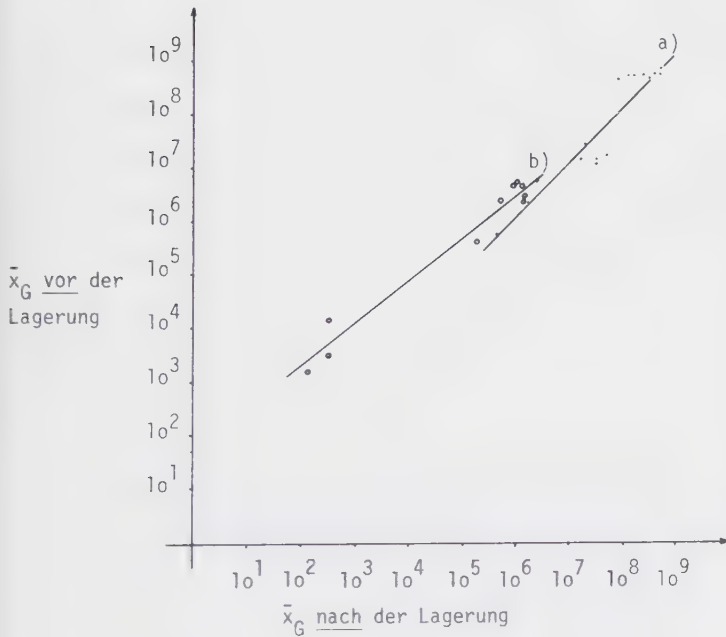


Korrelationskoeffizienten r:

- Gesamtzahl aerober Keime $r = 0,998$
- Enterobacteriaceenzahl $r = 0,848$; (mit Rücksicht auf die kleinen Keimzahlen, fallen hier eventuelle methodische Fehler ins Gewicht)

Abb. (6) AUFSCHNITT: (Kommentar Seite 49)

- a) • = Gesamtzahl aerober Keime: 16 Versuche à 4 Parallelproben
b) • = Enterobacteriaceenzahl : 10 Versuche à 4 Parallelproben

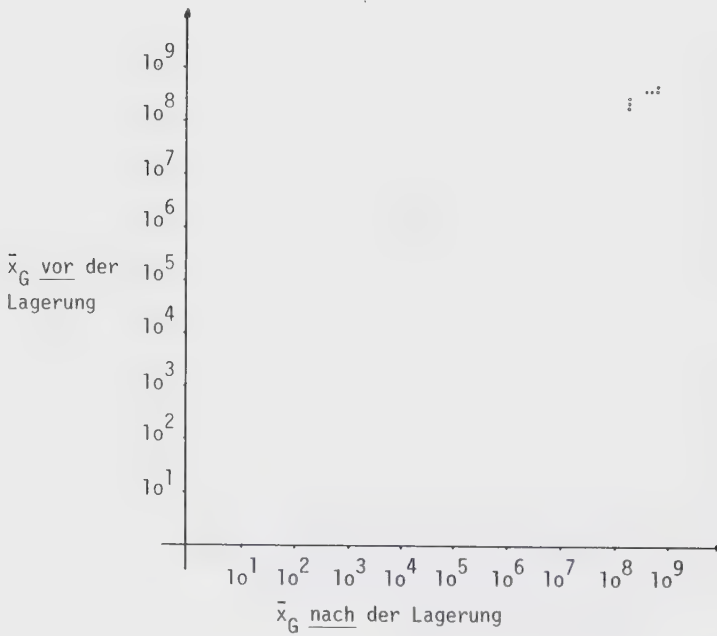


Korrelationskoeffizienten r :

- Gesamtzahl aerober Keime $r = 0,943$
- Enterobacteriaceenzahl $r = 0,984$; (mit Rücksicht auf die kleinen Keimzahlen, fallen hier eventuelle methodische Fehler ins Gewicht)

Abb. (7) LANDJAEGER: (Kommentar Seite 49)

Gesamtzahl aerober Keime: 8 Versuche à 4 Parallelproben

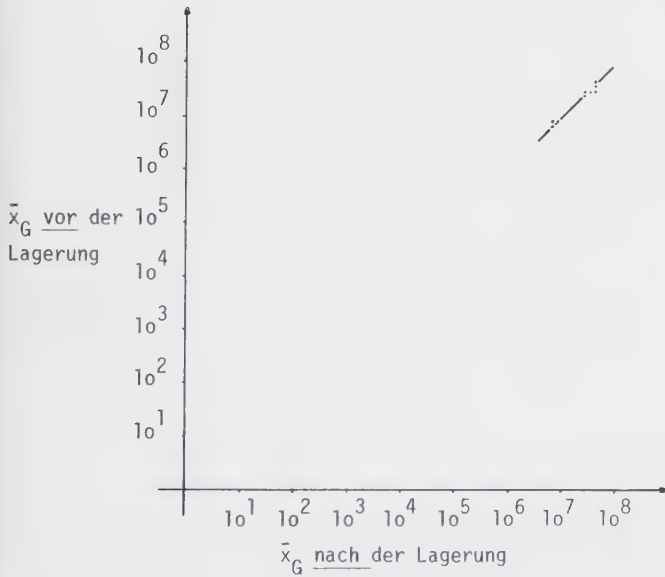


Korrelationskoeffizient $r = 0,882$

Da die Punkte sehr nahe beieinander liegen, wird die Verbindung durch ihre Korrelationsgerade nicht sinnvoll.

Abb. (8) METTWURST: (Kommentar Seite 50)

Gesamtzahl aerober Keime: 12 Versuche à 4 Parallelproben



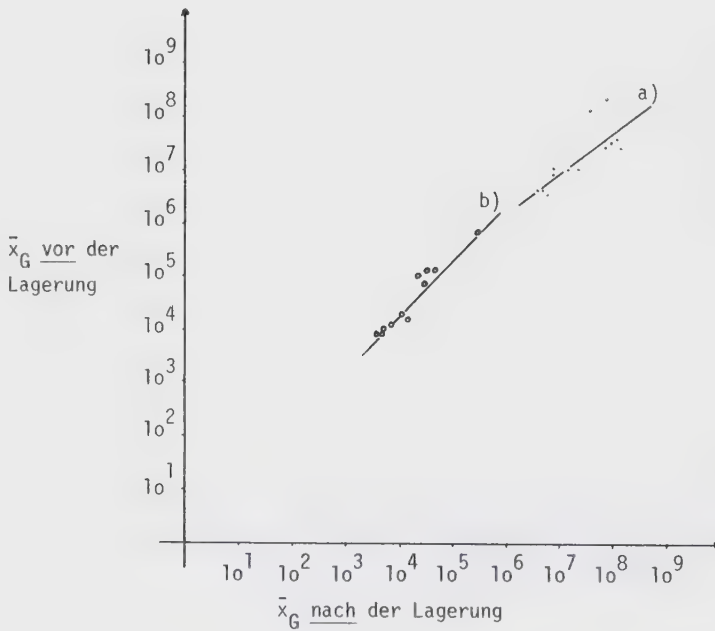
Korrelationskoeffizient $r = 0,977$

Auf die Darstellung der Enterobacteriaceenzahlen musste verzichtet werden.

Abb. (9) HACKFLEISCH: (Kommentar Seite 50)

a) $\cdot$ = Gesamtzahl aerober Keime: 13 Versuche à 4 Parallelproben

b) $\circ$ = Enterobacteriaceenzahl : 14 Versuche à 4 Parallelproben



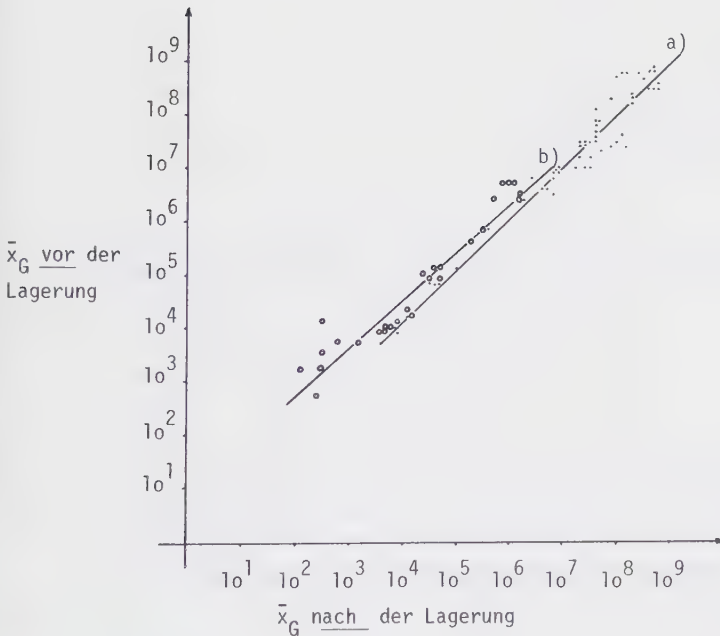
Korrelationskoeffizienten r:

- Gesamtzahl aerober Keime $r = 0,783$

- Enterobacteriaceenzahl $r = 0,978$

Abb. (10) GEMEINSAME DARSTELLUNG ALLER VERSUCHSERGEBNISSE: (Kommentar Seite 50)
(Cervelats, Aufschnitt, Landjäger, Mettwurst, Hackfleisch)

- a) • = Gesamtzahl aerober Keime: 61 Versuche à 4 Parallelproben
b) • = Enterobacteriaceenzahl : 28 Versuche à 4 Parallelproben



Korrelationskoeffizienten r:

- Gesamtzahl aerober Keime $r = 0,976$
- Enterobacteriaceenzahl $r = 0,962$; (mit Rücksicht auf die kleinen Keimzahlen, fallen hier eventuelle methodische Fehler ins Gewicht)

VI. KOMMENTAR (ZU DEN ABB. 5 - 11)

Im allgemeinen zeigte sich, dass hohe Keimzahlen - die hygienisch relevant sind - während der Konservierung und Lagerung konstant blieben. Relativ grössere Schwankungen wurden nur bei niedrigen Keimzahlen festgestellt.

Cervelats

Die Uebereinstimmung der aeroben Gesamtkeimzahl vor und nach der Konservierung und Lagerung darf als sehr gut bezeichnet werden, beträgt doch der Korrelationskoeffizient $r = 0,998$.

Auch die Uebereinstimmung der Enterobacteriaceenzahl vor und nach der Konservierung und Lagerung - bei der der Korrelationskoeffizient $r = 0,848$ beträgt - darf noch akzeptiert werden.

Aufschnitt

Die Uebereinstimmung der aeroben Gesamtkeimzahl sowie der Enterobacteriaceenzahl, vor und nach der Konservierung und Lagerung, darf als gut bewertet werden, beträgt doch der Korrelationskoeffizient für die ersteren $r = 0,943$ und für die letzteren $r = 0,984$.

Landjäger

Die Anfangskeimzahlen der untersuchten Landjäger bewegten sich zwischen $\log. 8,2$ und $\log. 8,6$. Sie blieben während der Lagerung konstant. Die Maximalabweichung betrug $\log. 0,3$. Da der Streubereich der Werte eng ist, ist der Korrelationskoeffizient von $r = 0,882$ nicht aussagekräftig.

Mettwurst

Bei der Keimzählung der Mettwürste ergaben sich Schwierigkeiten. Während die Gesamtzahl aerober Keime in Parallelproben kaum voneinander abwich, stellten wir bei den Enterobacteriaceen schon bei der Bestimmung der Ausgangskeimzahlen Unterschiede bis zu zwei Zehnerpotenzen, nämlich zwischen 8 und 700 pro Gramm fest. Eine Erklärungsmöglichkeit wäre die, dass sich in den Mettwürsten kleine Agglomerate von Enterobacteriaceen befinden, die durch übliche Homogenisierungsmethoden nicht gleichmässig verteilt werden können. Bei den aeroben Gesamtkeimzahlen beträgt der Korrelationskoeffizient $r = 0,977$ und ist sehr gut.

Hackfleisch

Der Korrelationskoeffizient der aeroben Gesamtkeime von $r = 0,783$ darf hier noch als annehmbar bezeichnet werden, da die Abweichung der Keimzahlen nach der Lagerung nur in einem Fall grösser als eine halbe Zehnerpotenz war.

Der Vergleich der Enterobacteriaceenzahlen ergab eine sehr gute Uebereinstimmung, betrug doch der Korrelationskoeffizient $r = 0,978$.

Gemeinsame Darstellung aller Versuchsergebnisse

(Cervelats, Aufschnitt, Landjäger, Mettwurst, Hackfleisch)

Die zusammenfassende Darstellung aller Versuche zeigt, dass die Punkte mit wenigen Ausnahmen in unmittelbarer Nähe der Winkelhalbierenden liegen. Die Korrelationskoeffizienten $r = 0,976$ für die Gesamtzahl aerober Keime bzw. $r = 0,962$ für die Enterobacteriaceen sind entsprechend gut.

Versuch mit zwei Lagertemperaturen

Der Versuch mit den beiden Lagertemperaturen von $+1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ bzw. $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ lässt erkennen, dass kleine Temperaturschwankungen wenig Einfluss auf die Konservierung haben. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von $+5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ stieg die Gesamtzahl aerober Keime bereits etwas an, während die Anzahl der Enterobacteriaceen noch konstant blieb.

Koagulase-positive Staphylokokken und Clostridien

Um etwas bestimmtes aussagen zu können, waren die jeweiligen Keimzahlen immer zu klein. Falls aber vor der Konservierung und Lagerung einzelne dieser Keime isoliert werden konnten, so waren sie meist auch nach der Lagerung in ähnlicher Anzahl wieder nachzuweisen.

D) ZUSAMMENFASSUNG

- Die Arbeit befasst sich mit der Konservierung von amtlich erhobenen Proben von Fleisch und Fleischwaren, die für eine eventuelle Ober-expertise vorgesehen sind.
- Um in solchen Proben verschiedener Fleischwaren die Keimzahl während 21 Tagen konstant zu halten, wurde nach mehreren Vorversuchen ein Medium gefunden, das die Voraussetzungen erfüllte.
- Zusammensetzung des Konservierungsmediums:

Borsäure	50,00 g
K-Sorbat	0,75 g
Glycerin	10,00 g
Aqua dest.	ad 1000,00 g
<u>von obiger Lösung</u>	<u>336,00 g</u>
Dioxan	20,00 g
modifizierte physiolog. NaCl-Lösung	ad 1000,00 g
(2%ige Pepton- + 0,85%ige NaCl-Lösung)	
- Getestet wurden hitzebehandelte Fleischwaren, gereifte schnittfeste Rohwürste, streichfähige Rohwürste, Mettwürste, Teewürste, sowie Hackfleisch.
- Die zerkleinerten Fleischwaren wurden im Gewichtsverhältnis 1 : 1 mit dem Konservierungsmedium vermischt und bei $+1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ gelagert.
- Verglichen wurde die Gesamtzahl aerober Keime, der Enterobacteriaceen, sowie anhangsweise die von Clostridien und von koagulase-positiven Staphylokokken vor bzw. nach Konservierung und Lagerung.

- Die ermittelten Korrelationseffizienten r der Keimzahlen vor bzw. nach Lagerung waren durchwegs gut bis sehr gut. Sie bewegten sich bei der Zahl aerober Gesamtkeime zwischen $r = 0,783$ und $r = 0,998$ und lagen bei den Enterobacteriaceenzahlen zwischen $r = 0,848$ und $r = 0,978$.
- Beantragt wird eine Aenderung des Punktes 4 des Anhangs A der Instruktion für die Fleischschauer vom 1. September 1962.

E) ANHANG

Bezug zur Praxis

Meiner Meinung nach, ist das in dieser Arbeit beschriebene Konservierungsmedium zusammen mit Kühlagerung bei $+1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ geeignet, den Keimgehalt in Fleischproben während drei Wochen konstant zu halten. Dadurch können nach dieser hier vorgestellten Methode konservierte Proben eine Beweisfunktion im Rahmen von Beschwerdeverfahren gegen erstinstanzliche Laborbefunde haben.

Antrag zur Revision der Instruktion für die Fleischschauer vom 1.9.1962

In der heutigen Praxis wird Probenmaterial, das für allfällige spätere Nachprüfungen aufbewahrt wird, meistens tiefgefroren. Da sich aber beim Tiefgefrieren von Fleischwaren deren Keimgehalt nachweisbar ändert, sollte meiner Meinung nach im Anhang A der Instruktion für die Fleischschauer Ziff. 4 ergänzt werden. Es ist vorzuschreiben, dass die Probe derart zu konservieren ist, dass sich der Keimgehalt bis zu einer eventuellen Nachuntersuchung nicht ändert. Dazu eignet sich das von mir beschriebene Verfahren.

F) LITERATURVERZEICHNIS

1. Noskova, G.L.:
Mikrobiologie des Fleisches bei Kühlagerung.
VEB-Fachbuchverlag Leipzig, 11 (1975)
2. Ingraham, J.L. and Stokes, J.L.:
Psychrophilic bacteria.
Bact. Rev., 23, 97 - 106 (1959)
3. Stokes, J.L.:
General biology and nomenclature of psychrophilic micro-organisms.
Ed. N. E. Gibbons, Toronto: University Press
Vol VIII., p. 187 - 192 (1963)
4. Rose, A.H.:
Physiology of micro-organisms at low temperatures.
J. appl. Bacteriol, 31, 7 (1968)
5. Eddy, B.P.:
The use and meaning of the term "psychrophilic".
J. appl. Bacteriol, 23, 189, 190 (1960)
6. Mossel, D.A.A.:
Nahrungsmittel als Umwelt für Mikroorganismen, die Lebensmittel
gesundheitsschädlich machen.
Alimenta, 1, 11 (1969)
7. Ohye, D.F. and Scott, W.J.:
Studies in the physiology of Clostridium Botulinum type E.
Australien J. Biolog. Sci., 10, 87 - 89 (1957)

8. Schmidt, C.F. u.a.:
Growth and toxin production by type E Clostridium Botulinum
below 40⁰ F.
Food Science, 26, 626 - 630 (1961)
9. Eklund, M.W., Wieler, D.I. and Poysky, F.T.:
Outgrowth and toxin production of nonproteolytic type B Clostridium Botulinum at 3,3 to 5,6⁰ C.
J. of Bacterylogy, 93, 1461, 1462 (1967)
10. Elliott, R.P. and Michener, H.D.:
Conferenc on frozen food quality
Review of the microbiology of frozen foods. Held at Albany, California 19
Agricultural Research Service; United States Department of Agriculture,
40 - 43 (1962)
11. Schmidt-Lorenz, W.:
Mikrobieller Verderb von Lebensmitteln.
Temperatur Technik, Juli/August, 95 - 100 (1976)
12. Schmidt-Lorenz, W.:
Mikrobiologische Probleme bei tiefgefrorenen und gefriergetrockneten
Lebensmitteln.
Alimenta, 6, 248 - 251 (1970)
13. Stille, B.:
Untersuchungen über den Kältetod von Mikroorganismen.
Archiv für Mikrobiologie, 4, 36 - (1948)
14. Schmidt-Lorenz, W. und Gutschmidt, J.:
Mikrobielle und sensorische Veränderungen gefrorener Lebensmittel
bei Lagerung im Temperaturbereich von -2,5⁰ C bis -10⁰ C.
Lebensmittel - Wissenschaft + Technologie, Vol. 1, (1968)

15. Borgstrom, G.:
Microbiological problems of frozen products.
Advances in Food Research, Vol. 6, 163 - (1955)
16. Burton, M.O.:
Comparison of coliform and enterococcus organisms as indices
of pollution in frozen foods.
Food Research, 14, 434 - (1949)
17. Ienistea, C. und Pleceas, P.:
Untersuchungen zum Vorkommen von Enterokokken in verpacktem Gefrier-
hackfleisch unter dem Einfluss der Verfahrenstechnik und während der
Gefrierlagerung.
Die Nahrung, 11, 55 - 61 (1967)
18. Schmidt-Lorenz, W. und Gutschmidt, J.:
Mikrobielle und sensorische Veränderungen gefrorener Brathähnchen
und Poularden bei Lagerung im Temperaturbereich von $-2,5^{\circ}$ bis -10° C.
Die Fleischwirtschaft, 1033 (1969)
19. Heeschen, W. und andere:
Die Konservierung von Milchproben zur bakteriologischen, zytologischen
und hemmstoffbiologischen Untersuchung.
Milchwissenschaft, Jahrgang 24, Heft 12, 729 - 733 (1969)
20. Wodzinski, R.J. and Frazier, W.C.:
Moisture requirements of P. Fluorescens.
J. of Bacteriology, 79, 577 (1960)
21. Wodzinski, R.J. and Frazier, W.C.:
Moisture requirements of A. Aerogenes.
J. of Bacteriology, 81, 357 (1961)

22. Lück, E.:
Chemische Lebensmittelkonservierung.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 346
23. Kuhn, R.:
aus Römpp, Chemie-Lexikon
24. Karlson, P.:
Biochemie
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 346
25. Lück, E.:
Sorbinsäure
Behr's-Verlag, Hamburg, Band 2, 32 - 39, 108 - 115 (1972)
26. Vogel, J. und Prahl, L.:
Sorbinsäure als Konservierungsmittel
VEB Fachbuchverlag, Leipzig, 47 - 50 (1968)
27. Stumpf, W.:
Chemie und Anwendung des 1,4-Dioxans
Verlag Chemie GmbH, Weinheim (1956)
28. Sitaram S. Pawar und Avinash M. Mungikar:
Dioxane toxicity and hepatic mixed function oxidase enzymes in mice.
Indian Journal of Experimental Biology, Vol. 16, 54 - 56 (1978)
29. Hess, E. und Lott, G.:
Die Zerkleinerung des Fleisches, ein haltbarkeitsvermindernder Faktor.
Archiv für Lebensmittelhygiene, 16, 265 - 268 (1965)
30. Hess, E., Ruosch, W., Breer, C.:
Verfahren zur Verlängerung der Haltbarkeit von verpacktem Frischfleisch.
Fleischwirtschaft 60. Jahrgang, 8, (1980)

Meinen herzlichen Dank an

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. E. Hess, für seine Unterstützung
und für die Ueberarbeitung des Textes

Herrn Prof. Dr. H. Keller, Korreferent, für die Ueberlassung
des Themas sowie die Durchsicht der Arbeit

Herrn Dr. C. Breer, für die vielen nützlichen Ratschläge im
Laufe meiner Untersuchungen

die Angestellten des Instituts für Veterinär-Hygiene der Uni-
versität Zürich, für ihre kollegiale Mithilfe

Erika Bergamo und Eva Gugelmann für die Schreibarbeiten.

Lebenslauf

Als jüngstes Kind der Alma und des Ernst Herrmann-Bezzola, wurde ich in Schaffhausen am 6. Oktober 1952 geboren.

In Schaffhausen besuchte ich die Primar-, Real- und Kantonsschule. Die Kantonsschule schloss ich im Herbst 1972 mit der Maturität des Typus C ab.

Im Herbst 1972 immatrikulierte ich mich an der Universität Zürich. Im Herbst 1977 bestand ich mein Staatsexamen als Tierarzt und begann einige Zeit später mit meiner Dissertation.

Seit dem Winter 1977/78 bin ich bei verschiedenen praktischen Tierärzten in den Kantonen Aargau, Thurgau, St. Gallen, Luzern und in der süddeutschen Nachbarschaft tätig.

